

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'Etat)

PAR

Jean-Pierre SERVE

né le 3 Janvier 1938 à Neuvic d'Ussel (Corrèze)

Présentée et soutenue publiquement le 26 Avril 1966

*Contribution à l'étude des variations de
l'activité leucine aminopeptidasique
du sérum au cours de certaines
affections pathologiques*

Président : M. DASTUGUE *Professeur*

Membres du Jury : M. BERGERON *Professeur*

M. BASTIDE *Professeur*

M. PIGNIDE *Maître de Conférence Agrégé*

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'Etat)

PAR

Jean-Pierre SERVE

né le 3 Janvier 1938 à Neuvic d'Ussel (Corrèze)

Présentée et soutenue publiquement le 26 Avril 1966

*Contribution à l'étude des variations de
l'activité leucine aminopeptidasique
du sérum au cours de certaines
affections pathologiques*

Président : M. DASTUGUE *Professeur*

Membres du Jury : M. BERGERON *Professeur*

M. BASTIDE *Professeur*

M. PIGNIDE *Maitre de Conférence Agrégé*



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Doyen : G. MEYNIEL
Assesseur : M. COULET

Directeur Honoraire : M. MERLE
Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET,
MM. BUREAU, FOURNIER, GAUTHIER,
et POMMÉ

I. Professeurs titulaires :

MM. BARRIER. — Clinique Chirurgicale A.
BASTIDE. — Chimie Biologique et Pharmacodynamie.
BAUDON. — Clinique Obstétricale.
BERGERON. — Pathologie Médicale.
COULET. — Botanique et Microbiologie.
CUVELIER. — Hydrologie et Climatologie.
DASTUGUE. — Biochimie médicale.
DAUPHIN. — Chimie Pharmaceutique et Toxicologie.
FEBVRE. — Pharmacie Galénique.
GRAS. — Thérapeutique.
JACQUEMET. — Technique chirurgicale.
LATAIX. — Pathologie Chirurgicale.
MEYNIEL. — Biophysique médicale.
MOLINA. — Clinique Pneumo-phtisiologique.
PETIT. — Médecine Légale et Médecine Sociale.
POROT. — Clinique Neurologique et Psychiatrique.
POURRAT. — Matière Médicale.
ROUHER. — Clinique Ophtalmologique.
TERRASSE. — Clinique Médicale B.
THIEBLot. — Physiologie.
TRONCHE. — Pharmacie Chimique.
TURCHINI. — Histologie et Embryologie.
VAURS. — Bactériologie et Hygiène.
WILLEMIN-CLOG. — Clinique Médicale Infantile.

II. Professeurs à titre personnel :

MM. THOMAS. — Oto-rhino-laryngologie.
VIALLET. — Electro-Radiologie.

III. Professeurs sans chaire :

MM. BERGER. — Chimie Analytique.
DUCHÊNE-MARULLAZ. — Physiologie.
GERMAIN. — Clinique Chirurgicale B.

IV. Maîtres de Conférences agrégés :

MM. ALFIERI. — Physique Médicale.
BOSSY. — Anatomie.
Mlle CHATONIER. — Chimie Minérale et Minéralogie.
MM. CLUZEL. — Bactériologie.
DELAGE. — Anatomie pathologique.
Mmes GAILLARD. — Physique Pharmaceutique.
MOINADE. — Médecine Générale et Thérapeutique.
MM. PIGNIDE. — Médecine Générale.
Mme POURRAT. — Botanique.
VENRIES DE LAGUILLAUMIE. — Anatomie Pathologique.

V. Agrégés :

MM. CHAMPEIX. — Médecine Légale et Médecine du Travail.
FOURIER. — Orthopédie.
HOUDARD. — Chirurgie générale.
JALLUT. — Médecine Générale.
JANNY. — Neuro-Chirurgie.
MENUT. — Pédiatrie et Puériculture.
MERCIER. — Chirurgie Générale.
Mlle RAMPON. — Médecine Générale.
MM. RENARD. — Pneumo-phtisiologie.
TOURNILHAC. — Neurologie et Psychiatrie.

Attaché Principal : M. BERTHON.

Bibliothécaire universitaire : M. ARCHIMBAUD.

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation (Délibération en date du 6-6-1956).

A MA FEMME ET MES ENFANTS.

A MES PARENTS.

A MES BEAUX-PARENTS.

A TOUTE MA FAMILLE.

A MES AMIS.

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur G. DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale

Docteur en Médecine et en Pharmacie

Docteur ès Sciences

Lauréat de l'Académie de Médecine et de l'Académie des
Sciences

Chevalier de la Légion d'Honneur

Commandeur de la Santé Publique

Officier des Palmes Académiques

Il nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse, après nous en avoir inspiré le sujet.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profonde gratitude et notre respectueuse admiration.

A NOTRE JURY DE THÈSE

Monsieur le Professeur BERGERON

Professeur de Pathologie Médicale

Médecin des Hôpitaux

*Nous le remercions d'avoir bien voulu
juger notre thèse. Qu'il nous permette de
lui exprimer notre profonde et respec-
tueuse reconnaissance pour son enseigne-
ment.*

Monsieur le Professeur P. BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie

Pharmacien des Hôpitaux

*Il nous a fait l'honneur de bien vouloir
juger notre travail. Qu'il nous soit permis
de lui exprimer notre profonde et respec-
tueuse gratitude.*

Monsieur le Professeur Agrégé L. PIGNIDE

Maitre de Conférences agrégé

(Médecine Générale et Thérapeutique)

Médecin des Hôpitaux

Chevalier des Palmes Académiques

*Qu'il nous permette d'exprimer notre
profond respect et notre gratitude pour
l'honneur qu'il nous fait en acceptant de
siéger à notre Jury de Thèse.*

A Monsieur TIXIER

Pharmacien-Chef du Centre Hospitalier de Vichy

*Avec ma profonde reconnaissance pour
les encouragements qu'il nous a toujours
prodigués et l'aide irremplaçable qu'il nous
a apportée pour la réalisation de notre
travail.*

A Monsieur le Docteur ULLMANN

Médecin-Chef du Centre Hospitalier de Vichy

*En témoignage de notre reconnaissance
et de notre attachement.*

A TOUS MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE CLERMONT-FERRAND
ET DU CENTRE HOSPITALIER DE VICHY

A TOUS MES CAMARADES DE L'INTERNAT DE VICHY

INTRODUCTION

L'intérêt de l'appréciation de la protéinémie totale et du dosage des différentes fractions protéïniques du plasma, en Clinique humaine, est connu depuis longtemps. Ce n'est que de façon plus récente que les auteurs se sont penchés sur le cas d'une variété plus spéciale de protéïnes plasmatiques que sont les Enzymes du plasma.

La signification de la présence d'Enzymes dans le plasma, déjà à l'état physiologique, pose un certain nombre de questions. Il est clair, en effet, que le plasma, considéré indépendamment des éléments figurés qu'il possède, ne représente pas un tissu, mais, comme on l'a dit, une voie navigable, et les Enzymes qu'il renferme, ou plutôt qu'il transporte, n'ont pas à jouer leur rôle habituel à son niveau, étant donné que les opérations auxquelles elles président ne s'effectuent habituellement que dans les cellules dont elles sont originaires.

Mais, déjà, à l'état normal, les cellules laissent diffuser dans le plasma une certaine quantité de protéïnes à valeur enzymatique, de même que, toujours à l'état normal, les hépatocytes livrent au plasma la sérumbumine qu'ils ont synthétisée, et le système lymphoréticulocytaire, un certain nombre de gamma-globulines.

Cette diffusion des Enzymes, allant des tissus vers le plasma, est fonction de toute une série de facteurs parmi lesquels il convient de citer la vitesse de destruction des protéïnes plasmatiques par des processus qui sont encore mal connus, les excitations diverses capables d'augmenter la perméabilité des cellules qui les synthétisent, et, enfin, et certainement surtout, l'état fonctionnel de celles-ci. Toute élévation d'une activité enzymatique déterminée dans le plasma devra donc, de ce fait, déjà être discutée, et cela d'autant plus que, si chaque activité enzymatique est habituellement très spécifique et peut être appréciée dans de bonnes conditions, indépendamment de celles qui l'accompagnent dans le même plasma, par contre les cas sont rares d'une Enzyme qui ne serait synthétisée qu'au niveau d'une seule variété de cellules. La plupart des Enzymes, au contraire, habituellement dosées dans le plasma sont de provenance tissulaire multiple. Mais il est

bien vrai, également, que le taux de plusieurs d'entre elles n'augmente que dans certaines circonstances pathologiques et pas dans d'autres, si bien qu'en définitive, sans avoir de toute évidence, dans la plupart des cas, de valeur absolue, un résultat de dosage enzymatique dans le plasma peut, par confrontation clinique et chimique, comme il en est, d'ailleurs, pour tous les tests de laboratoire, fournir des renseignements intéressants pour le Clinicien.

Certes, il y aurait un moyen de couper court, dans une large mesure, à ces difficultés et aux discussions qu'elles suscitent. Ce serait, la proposition a été suggérée et même mise en œuvre dans quelques cas, la méthode qui consisterait à opérer une micro-ponction d'organe, à obtenir, comme l'on dit, une « carotte cellulaire », et à doser l'Enzyme par une micro-méthode sur le prélèvement ainsi effectué. Mais, outre que cette méthode n'irait pas toujours sans danger, et que bien des cliniciens répugnent à la mettre en œuvre, les biochimistes ne disposeraient pas, dans tous les cas, des micro-méthodes quantitatives correspondantes indispensables.

C'est ainsi, compte tenu de toutes ces réserves, qu'il faut avoir présentes à l'esprit, réserves réelles mais ne réduisant pas à néant, tant s'en faut, la valeur incontestable qui s'attache aux problèmes que nous discutons, que l'on a pu prétendre qu'un dosage d'activité enzymatique plasmatique, effectué dans de bonnes conditions, et replacé dans son contexte, représentait une véritable biopsie tissulaire par l'intermédiaire d'un dosage humoral, et pouvait permettre, dans les cas les plus heureux, de remonter à la lésion tissulaire ou au dysfonctionnement cellulaire correspondant.

C'est donc dans cet esprit que déjà, depuis plusieurs années, un très grand nombre d'activités enzymatiques plasmatiques ont été dosées en clinique humaine, et, parmi elles, l'activité Leucine aminopeptidasique. Précisément, étant donné l'intérêt qui semble avoir été détecté à cette occasion dans un certain nombre de processus pathologiques, Monsieur le Professeur Dastugue qui avait eu l'occasion d'examiner cette diastase à plusieurs reprises du point de vue expérimental dans son laboratoire, nous a demandé de reprendre un certain nombre de ces dosages chez quelques individus sains et pathologiques, et de confronter ces résultats avec ceux qu'il nous serait donné de réunir dans la littérature médicale.

Notre mémoire comprendra trois parties :

A. — Dans le premier chapitre, purement bibliographique, nous exposerons quelques notions générales concernant la Leucine aminopeptidase :

- Définition.
- Historique.
- Répartition.
- Spécificité.
- Hétérogénéité.
- Dosage.

B. — Au deuxième chapitre, nous nous proposons d'étudier l'intérêt clinique que peut présenter la détermination de l'activité leucine aminopeptidasique dans le sérum au cours d'affections pathologiques variées. Pour cela, nous exposerons et confronterons les différentes publications parues jusqu'ici, et nous essaierons de tirer des conclusions sur la valeur diagnostique de cette détermination.

C. — Enfin, le troisième chapitre, expérimental, sera consacré à l'étude des variations de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum et comprendra deux parties :

La première qui sera consacrée à l'étude technique de la méthode de dosage que nous avons utilisée,

La deuxième qui sera consacrée à l'étude du taux de la L.A.P. sérique chez quelques individus sains et pathologiques.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer notre respectueuse gratitude à notre Maître, Monsieur le Professeur Dastugue, pour toutes les directives et les conseils qu'il a bien voulu nous prodiguer pendant l'élaboration de ce travail.

Que Monsieur le Professeur Bastide, Monsieur le Professeur Bergeron et Monsieur le Professeur agrégé Pignide veuillent bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour avoir accepté de siéger à notre Jury de Thèse.

Nous n'aurons garde d'oublier Monsieur Tixier, Pharmacien-Chef au Centre Hospitalier de Vichy, pour les encouragements qu'il nous a toujours prodigués et la compétence avec laquelle il a effectué les dosages figurant dans ce travail.

Nous tenons, enfin, à exprimer ici la profonde reconnaissance que nous devons à tous nos maîtres de la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand et du Centre Hospitalier de Vichy pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

CHAPITRE PREMIER

La leucine aminopeptidase

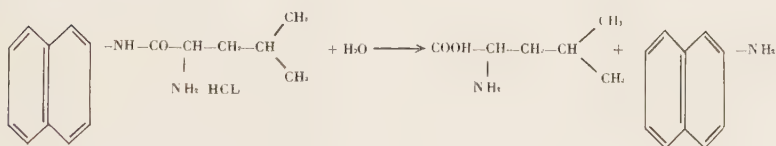
A. — DÉFINITION.

La Leucine aminopeptidase (L.A.P.) est une enzyme protéolytique qui hydrolyse les amides d'acide-amino, les dipeptides et les polypeptides (17).

Elle doit son nom au fait qu'elle réagit plus rapidement avec les composés de la Leucine, La L-leucine-amide et les peptides à Leucine.

In vitro, cette enzyme catalyse la réaction :

L-leucyl- β -naphtylamide + eau $\longrightarrow$ Leucine + β -naphtylamine.



Cette réaction type qu'elle catalyse sert à la mesure de son activité.

Son action se trouve nettement accélérée en présence d'ions manganèse ou magnésium (25).

B. — HISTORIQUE.

En 1929, Linderstrom-Lang (71) remarqua que les substances suivantes : Leucylglycine, Alanylglycine et Glycylglycine n'étaient pas hydrolysées par une seule et même enzyme. L'enzyme qui hydrolysait la Leucylglycine reçut le nom de Leucine aminopeptidase.

Smith (109), plus tard, a démontré que seule la forme L de la Leucine-amide, était susceptible d'être hydrolysée par cette diastase.

Green (47), Folk et Burstone (37), en 1955, établirent la

détermination colorimétrique de la leucine aminopeptidase.

L'année suivante, Burstone (26) démontra la présence de L.A.P. dans les « néoplasmes humains ».

En 1957, Fleisher, Butt et Huizenga (35) ont trouvé des augmentations importantes du taux sérique de cette diastase dans des affections variées du foie.

Mais c'est surtout la publication, en 1958, de Rutenburg, Goldberg et Pineda (98) faisant état d'une augmentation du taux sérique de la L.A.P. dans des cas de carcinome pancréatique qui provoqua un intérêt considérable pour cette diastase.

Depuis, de nombreux auteurs ont étudié les variations de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum dans différents états pathologiques. Nous examinerons leurs travaux dans le chapitre suivant consacré à l'étude de l'intérêt clinique que peut présenter le dosage de cette enzyme dans le sérum.

C. — RÉPARTITION.

Exopeptidase décelée dans de nombreux tissus animaux, végétaux et chez les micro-organismes (78), cette diastase a une distribution apparemment intracellulaire dans le règne animal. Elle est présente dans presque tous les organes, et certains, tels que le foie, le rein, le duodénum, ont témoigné d'une certaine richesse en cette enzyme (45). Elle apparaît, également, dans le sérum, la bile, le liquide céphalo-rachidien où elle est aisément dosable.

L'activité leucine aminopeptidasique se retrouve également et d'une façon très nette au niveau des éléments figurés du sang, et notamment au niveau des Hématies, comme l'ont montré Dastugue et coll. (31). Ces auteurs ont étudié l'influence complexe de la dilution sur la détermination de l'activité de cette diastase, et ils ont montré que, selon l'espèce animale considérée, ou bien la décroissance d'activité va de pair avec la dilution, ou bien l'activité passe par un maximum pour une dilution donnée. Sans qu'il ait été donné une explication complète à ce phénomène, il semble qu'il soit cependant nécessaire d'en tenir compte pour normaliser l'appréciation enzymatique des Hématies.

D. — SPÉCIFICITÉ.

La spécificité de la leucine aminopeptidase est actuellement très discutée. Fleisher et coll. (36), dans leurs travaux sur cette diastase que nous reverrons au chapitre suivant, sont

arrivés à la conclusion que la L-leucylglycine et la L-leucyl- β -naphtylamide n'étaient pas hydrolysées par une même enzyme, contrairement à ce qui était admis jusque-là. Et, récemment, Nakagawa (85) a mis en évidence que la L.A.P. est responsable de l'hydrolyse de la Leucine-amide, mais non de l'hydrolyse de la L-leucyl- β -naphtylamide.

Par ailleurs, Nachlas (84) affirme la non spécificité de la L.A.P., avec « la probabilité que plus d'une existe ».

Ceci nous amène, tout naturellement, à envisager les travaux récents (105, 116) qui mettent en évidence l'hétérogénéité de cette diastase, et qui semble pouvoir être d'un intérêt considérable pour le clinicien.

E. — HÉTÉROGÉNÉITÉ.

Par des méthodes électrophorétiques, on a pu démontrer que des enzymes peuvent avoir, avec les mêmes caractéristiques chimiques, des vitesses de déplacement différentes. Ils ont reçu le nom d'iso-enzymes ou icelo-enzymes. Dans le cas de la leucine aminopeptidase, on a pu isoler, jusqu'ici neuf fractions (105). Ces auteurs (Schobel, Wewalka) ont montré que, chez les sujets normaux, on ne peut isoler qu'une ou deux fractions. Par contre, dans le sérum de malades, on peut mettre en évidence jusqu'à sept fractions supplémentaires. Pour ces auteurs, l'apparition, dans le sérum, de chacune de ces fractions, ou d'une certaine combinaison de celles-ci, serait le témoin plus ou moins spécifique d'une affection bien définie. Par exemple, ils ont montré qu'une fraction particulière apparaît au cours de la grossesse, et dans ce cas seulement, elle correspond à l'ocytocinase. Dans les affections pancréatiques, c'est une autre fraction qui est en cause.

Des travaux récents (116) semblent, d'ailleurs, confirmer les conclusions des auteurs précédents. En effet, en appliquant les méthodes électrophorétiques à la recherche de la L.A.P. dans des homogénats de tissus, on a pu isoler des fractions différentes de cette diastase selon les organes envisagés.

Outre l'aspect théorique, l'importance qui en résulte sur le plan diagnostic pourrait être considérable.

F. — DOSAGE.

Dans la suite de notre étude, l'appréciation de l'activité enzymatique sera effectuée selon la technique de Goldburg et Rutenburg (44) quelque peu modifiée : la β -naphtylamine libérée aux dépens de la L-leucyl- β -naphtylamide est estimée

par photocolorimétrie selon la réaction de Bratton et Marshall (21).

Bien que de nombreuses autres méthodes aient été depuis proposées (42, 74, 95, 97, 101, 118), nous avons utilisé cette technique qui présente l'avantage d'être simple et rapide.

Cette méthode dont les détails techniques seront exposés au troisième chapitre, repose sur le principe que la quantité de β -naphtylamine produite aux dépens du substrat est proportionnelle au pouvoir protéolytique de l'enzyme. Toutefois, comme le produit d'hydrolyse est incolore, nous le faisons réagir avec une base colorée la N- α -naphtyl-N'-diéthyl-propylène diamine, pour obtenir une teinte violacée d'autant plus intense que la quantité de β -naphtylamine formée est plus importante.

L'appréciation de cette hydrolyse enzymatique se résume donc à une estimation photocolorimétrique.

L'expression des résultats sera également exposée au troisième chapitre, à la suite de la description de la technique de dosage.

Intérêt clinique

Le diagnostic précoce des cancers, et notamment du cancer du pancréas, est toujours, cliniquement, très difficile, mais reste d'une importance thérapeutique évidente, et, c'est pourquoi, la publication de Rutenburg (98) faisant état d'une augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum dans des cas de carcinome pancréatique provoqua un vif intérêt pour cette diastase.

Par ailleurs, le diagnostic des affections hépatiques étant souvent complexe, différents tests enzymatiques ont été récemment proposés pour tenter de préciser l'importance des lésions parenchymateuses. Actuellement, dans ce but, on souligne l'importance des peptidases, dont la leucine aminopeptidase.

Enfin, certains auteurs (1, 8, 33, 51, 64, 65, 77, 103, 106, 122) ont étudié, avec des résultats encourageants, les variations de la L.A.P. sérique au cours de la gestation et dans certains cas de grossesse pathologique.

Nous nous proposons dans ce chapitre, de faire une étude succincte des différentes publications qu'il nous a été donné d'étudier, et d'essayer d'en tirer des conclusions sur l'intérêt diagnostic du dosage de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum.

A. — LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE ET CANCER.

Rutenburg, Goldbarg et Pineda (98) rapportèrent que le taux de la leucine aminopeptidasique sérique, chez 14 malades présentant un cancer du pancréas, était élevé d'une manière formelle. Pour ces auteurs, il ne faisait aucun doute que cette anomalie était bien due au cancer du pancréas, et à celui-ci uniquement, étant donné que trois de leurs malades ne présentant pas d'ictère, ils n'envisagèrent pas la possibilité d'une participation hépatique.

D'ailleurs, un peu plus tard, une publication de Harkness (53) paraissait confirmer les résultats obtenus par Rutenburg et ses collaborateurs.

L'intérêt diagnostique d'une telle découverte était d'une importance considérable, et c'est pourquoi de nombreux auteurs se sont penchés depuis sur l'étude des variations de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum, et non seulement dans les cas de carcinome pancréatique, mais aussi dans les différentes formations néoplasiques de l'organisme.

Cependant, les différents travaux publiés depuis n'ont pas orienté les cliniciens exactement dans cette même direction, et les auteurs se sont, au contraire, généralement ralliés aux conclusions de Shay et ses coll. (107) qui ont montré que, si la L.A.P. sérique subit bien une augmentation dans la plupart des cas de carcinome pancréatique, cette anomalie, d'une part, n'est pas constante, et, d'autre part, quand elle existe, elle semble due, en fait, à une atteinte secondaire du système hépato-biliaire. Leurs travaux semblent prouver, en effet, que, dans les cas de tumeurs du pancréas accompagnées d'ictère, l'augmentation du taux sérique de la diastase est due à la rétention, et que, en l'absence d'ictère, l'élévation de ce taux, si elle existe, est due à la présence d'une métastase hépatique qui peut être cliniquement inapparente.

De même, les différentes formations néoplasiques de l'organisme ne donnent généralement pas d'accroissement significatif du taux de la leucine aminopeptidase sérique (80). Simplement, une augmentation d'activité de cette diastase dans le sérum peut se manifester s'il s'ensuit une formation intense de métastases ou une infiltration néoplasique du foie (80).

Ainsi, on pourrait conclure, avec Pruzanski (92), que de fortes élévations du taux sérique de la L.A.P., chez des malades non ictériques, entraînent une forte suspicion de métastase hépatique.

B. — LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE ET AFFECTIONS DU FOIE ET DES VOIES BILIAIRES.

Par contre, les atteintes hépatiques donnent très fréquemment des augmentations de l'activité leucine aminopeptidasique dans le sérum.

Shay (107) montra que les hépatites donnaient des élévations importantes du taux sérique de cette diastase, ce qui confirmait les résultats obtenus par Flesher et ses collaborateurs (35) qui avaient trouvé des augmentations très significatives du taux de la L.A.P. sérique chez 261 malades présentant des affections hépatiques diverses, la plus grande augmentation étant liée à une hépatite aiguë. Et pour Cinque (28), la détermination du taux de cette diastase dans le

sérum serait utile pour révéler la phase inflammatoire des hépatites à virus.

Cependant, cette augmentation d'activité diastasique, au cours des hépatites n'est pas retrouvée d'une façon constante (80), et, lorsqu'elle existe, elle serait le plus souvent très modérée (19), si bien que l'intérêt de ce dosage au cours de ces affections est contesté par de nombreux auteurs.

La leucine aminopeptidase est généralement classée, comme la phosphatase alcaline, dans le groupe des enzymes de signification « cholestatique » (19), et, effectivement, bien que Cotte (29) ne note une augmentation du taux sérique de cette diastase que dans un cas sur six d'ictère par obstruction anatomique des voies biliaires chez l'enfant, il semble, cependant, que l'augmentation d'activité soit à peu près constante et retrouvée par la plupart des auteurs. Mais cette augmentation n'est pas en relation directe avec celle de la bilirubine sérique (2). En effet, l'élévation du taux de la L.A.P. sérique peut persister longtemps après la disparition de l'ictère (50, 107), ce serait, alors, la preuve d'une atteinte de la cellule hépatique, car, dans les cas d'ictère rétionnel bénin, le taux de la L.A.P. sérique revient à la normale bien plus rapidement que celui de la bilirubine (107).

Cependant, là encore, l'intérêt diagnostique d'un tel dosage n'est pas admis par tous les auteurs, et, par exemple, Boivin et Fauvert (19) estiment que la détermination de la leucine aminopeptidase sérique ne présente pas un intérêt supérieur au dosage de la phosphatase alcaline.

Par ailleurs, certains auteurs pensent que l'inflammation, à elle seule, des voies biliaires peut donner, indépendamment de toute rétention, une élévation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum (107). Ceci s'explique, probablement, par le fait que l'épithélium des voies biliaires est riche en cette diastase (45). Cette hypothèse se trouve vérifiée par la constatation de taux élevés de la L.A.P. sérique dans des cas de cholécystites aiguës, non accompagnées d'ictère (80).

Dans les cirrhoses, les résultats obtenus sont très variables. La leucine aminopeptidase sérique reste à un taux normal dans la majorité des cas, mais l'augmentation, quand elle se manifeste, peut être très accentuée (80), et serait due, alors, à une stéatose associée importante.

Mullner (80), en effectuant des dosages de l'activité leucine aminopeptidasique dans le sérum de nombreux malades présentant une atteinte du foie ou des voies biliaires, tenta de préciser les limites de la valeur diagnostique d'un tel dosage.

Il est arrivé à la conclusion que la détermination de l'activité de cette diastase ne peut avoir aucun intérêt, ni pour le diagnostic différentiel entre ictère par obstruction et ictère par hépatite, ni, dans le cas d'ictère par obstruction, pour en distinguer le type. Pour cet auteur, le seul intérêt de ce dosage réside dans le fait qu'il peut aider au diagnostic de métastase hépatique, en sachant que le taux de la L.A.P. sérique est très fréquemment augmenté dans ces cas, mais que le fait de rencontrer un taux normal ne permet absolument pas d'éliminer ce diagnostic.

Ainsi, de toutes les publications que nous avons eu l'occasion d'étudier, il nous paraît difficile de tirer des conclusions quant à la signification des variations de la leucine aminopeptidase dans le sérum et à la valeur diagnostique éventuelle de sa détermination en clinique humaine. Effectivement, le mécanisme de l'augmentation de la L.A.P. sérique semble très complexe. Cependant, il paraît vraisemblable que la cholostase joue un rôle important étant donné, d'une part, la fréquence et l'importance de l'élévation lors des obstructions biliaires, d'autre part, la teneur élevée de la bile en cette diastase. Mais cette explication n'est pas satisfaisante dans les cas d'hépatites aiguës où l'augmentation de la L.A.P. pourrait être due, alors à la cytolyse puisque les hépatocytes en contiennent (115). Mais l'évolution dans le temps, et la durée particulièrement longue de l'anomalie font envisager le rôle de la régénération cellulaire et de l'hyperproduction.

Cependant, les dernières publications (36, 100) en apportant des éléments nouveaux, paraissent attribuer au dosage de la leucine aminopeptidase sérique une importance diagnostique plus grande que celle qui lui avait été fixée par les auteurs, et notamment par Mullner.

Les travaux de Flesher (36), que nous avons déjà évoqués dans le chapitre de la spécificité de l'enzyme, montrent que, dans les cas d'hépatite, l'activité diastasique est très notablement augmentée si le substrat utilisé est la L-leucylglycine, alors que l'on enregistre une activité nettement moindre si l'on emploie la L-leucyl- β -naphthylamide. Inversement, dans les cas d'obstruction biliaire, l'hydrolyse du deuxième substrat manifeste une élévation nettement supérieure à celle du premier. Il serait donc possible, en effectuant simultanément les deux réactions, et en comparant les résultats obtenus, de différencier un ictère par rétention d'un ictère par hépatite.

De plus, la possibilité de porter, en présence d'un cancer, le diagnostic de métastase hépatique est confirmée par une récente publication de Rutenburg (100) qui fait intervenir une autre enzyme, la gamma-glutamyl-transpeptidase (G.G.

T.P.). Le dosage de cette enzyme, associé à celui de la leucine aminopeptidase, serait très évocateur d'une infiltration néoplasique du foie. En effet, la L.A.P. et la G.G.T.P. seraient élevées, respectivement, dans 8 p. 100 et 27 p. 100 des cas de cancer sans métastase hépatique, et dans 84 p. 100 et 91 p. 100, respectivement, des cas avec métastase hépatique.

C. — LEUCINE AMINOPEPTIDASE ET AFFECTIONS PATHOLOGIQUES DIVERSES.

De nombreux dosages de l'activité leucine aminopeptidase du sérum ont été également effectués dans des affections très variées sans jamais donner de résultats intéressants. Dans l'immense majorité des cas, le taux de la L.A.P. sérique reste dans les limites normales, et dans les quelques cas où l'on retrouve une augmentation de ce taux, il n'a pas été possible de donner une explication satisfaisante à cette anomalie, exception faite, bien entendu, des affections qui présentent une répercussion sur le système hépato-biliaire.

Hopsu et Ruponen (57, 58) ont étudié le rôle de la leucine aminopeptidase au niveau du rein, sans pouvoir le préciser d'une façon formelle. Ils pensent qu'elle joue, probablement, un rôle dans la réabsorption de certaines protéines ou dans la sécrétion tubulaire, étant donné sa localisation au niveau du tube proximal. Mais, bien que la teneur du tissu rénal en cette diastase soit importante, les auteurs ne notent pas de variations significatives de son taux dans le sérum au cours des différentes affections de cet organe (29, 89).

Enfin, en ce qui concerne les affections pancréatiques, il semble que l'augmentation soit constante dans les pancréatites aiguës (43, 80), alors que l'on ne retrouve généralement pas d'élévation de ce taux dans les pancréatites chroniques, ni dans la maladie fibrokystique du pancréas (80, 107), pas plus que dans les cancers de cet organe, en dehors d'une atteinte secondaire du foie, comme nous l'avons déjà vu.

En conclusion, on peut admettre, avec Méricas (76), que l'activité leucine aminopeptidase du sérum est un index assez spécifique des maladies de « l'appareil hépato-biliaire ».

D. — LEUCINE AMINOPEPTIDASE ET GROSSESSE.

L'intérêt du dosage de la leucine aminopeptidase sérique dans le diagnostic de la grossesse est apparu lorsque l'on a mis en évidence une activité leucine aminopeptidase accrue au cours de la gestation, dans le sérum maternel (1, 106).

Les travaux de Bastide, Daudon, Dastugue (8) ont bien mis en évidence cette augmentation d'activité dans le sérum maternel, en montrant que le rapport d'activité érythroplasmatique passe de 3, chez l'individu normal, à 1 environ, chez la femme enceinte, et au terme de la grossesse. Ils ont montré, également, que le placenta possède une activité diastatique élevée, alors que le sang du nouveau-né présente des taux voisins de ceux de l'individu normal. Pour certains auteurs (103), le placenta jouerait le rôle de barrière.

Cette augmentation de la diastase dans le sérum, au cours de la grossesse, est due, semble-t-il, à l'ocytocinase qui, nous l'avons vu, a le comportement d'un iso-enzyme. L'élévation s'effectue progressivement jusqu'au terme de la gestation, puis, après l'accouchement, la décroissance se fait de façon progressive, pour aboutir à un taux normal à la sixième semaine (122).

Mais l'intérêt du dosage de la L.A.P. sérique, au cours de la grossesse, demeurerait purement théorique étant donné que l'élévation n'était appréciable qu'à partir du troisième mois (2), si bien que sa détermination ne pouvait être d'aucune utilité dans le diagnostic précoce de la grossesse.

Cependant, Hanson et ses collaborateurs (51) ont montré que, au cours de la gestation, l'activité leucine aminopeptidase du sérum est notablement accrue si le substrat d'incubation se présente sous forme de leucinamide au lieu de L-leucyl- β -naphthylamide. Dans ce cas, le rapport des activités mesurées passe de 1 chez la femme non gravide, à 6 chez la femme enceinte. De même, Delcourt (33) a observé le même phénomène en comparant l'activité sérique vis-à-vis de la L-leucyl- β -naphthylamide et de l'alanine- β -naphthylamide. Le rapport d'activité, normalement compris entre 1.6 et 2, s'abaisse au cours de la grossesse pour atteindre le taux de 0,7 au terme de celle-ci, et cette variation se manifeste assez tôt, à partir du deuxième mois. Ceci nous permet de penser que l'on aurait, peut-être, là, un appoint supplémentaire au diagnostic biologique de la grossesse.

Enfin, le dosage de cette diastase dans le sérum donnerait, selon Miller (77), la possibilité de porter le diagnostic de grossesse gémellaire. En effet, cet auteur a constaté que, à chaque étape de la gestation, le taux sérique de la leucine aminopeptidase est plus élevé quand il s'agit de grossesse gémellaire que lorsqu'il s'agit de grossesse normale.

Mais l'intérêt essentiel de cette détermination réside, peut-être, dans les résultats des travaux de Kleiner et Van Rymenant (64, 65). Ces auteurs ont, en effet, effectué des dosages de la L.A.P. sérique dans des cas de grossesse pathologique,

et les résultats obtenus semblent présenter un réel intérêt diagnostique.

Dans l'insuffisance placentaire, il apparaîtrait que l'activité leucine aminopeptidasique du sérum s'écarte notablement des résultats représentant l'évolution de cette même activité au cours de la grossesse normale.

Dans la mort fœtale « in utero », il apparaîtrait clairement que la décroissance de l'activité enzymatique du sérum se manifeste deux jours après la mort présumée du fœtus, et qu'elle est d'autant plus importante que la mort fœtale paraît être plus ancienne.

Pour ces auteurs, le dosage de la L.A.P. sérique, dans le diagnostic de certaines grossesses pathologiques, constituerait donc un excellent appoint à la clinique et aux différents tests biologiques.

CHAPITRE III

Etude expérimentale des variations de la leucine aminopeptidase du sérum dans diverses affections pathologiques

A. — GÉNÉRALITÉS.

Ce chapitre, consacré à l'étude expérimentale de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum, comporte deux parties.

Dans la première, nous allons exposer les détails techniques de la méthode de dosage que nous avons utilisée, avec l'établissement de la courbe d'étalonnage et l'expression des résultats.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude clinique des cas pathologiques envisagés avec l'expression et la discussion des résultats obtenus.

Notre étude a porté sur 74 cas, au total.

23 dosages ont été effectués chez des sujets apparemment normaux du Centre de Transfusion de Vichy, ce qui nous a permis d'établir une moyenne du taux normal de la L.A.P. sérique chez l'homme et chez la femme, dans nos conditions expérimentales.

Quant à l'étude des variations de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum dans diverses affections pathologiques, elle a porté sur 51 malades, tous hospitalisés dans les différents services du Centre Hospitalier de Vichy.

B. — APPRÉCIATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE.

Nous avons déjà vu que l'appréciation de cette activité enzymatique se résume à une estimation photo-colorimétrique, mais que, le produit d'hydrolyse étant incolore, il est nécessaire de le faire réagir dans des conditions qui permettent d'obtenir un produit coloré.

Réactifs :

— Solution tampon de phosphates 0,2 M de pH 7,0 (mélanger en proportions convenables $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 27,4 g.p.l. (40 ml) et PO_4HNa_2 12 H₂O à 71,6 g.p.l. (60 ml). Conserver à -4°C).

— Solution de L-leucyl- β -naphtylamide, HCl, 3,425. 10^{-4} M. (PM = 292,7).

Préparer une solution aqueuse de chlorhydrate de L-leucyl- β -naphtylamide (Mann ou Sigma*) à 0,2 mg/ml, et mélanger à parties égales avec le tampon phosphate. Répartir en flacons de polythène. Conserver à -25° C.

— Solution aqueuse de nitrite de sodium à 0,1 p. 100 : préparer quotidiennement la solution dans l'eau glacée. Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— Solution aqueuse de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. 100. Conserver à $+4^{\circ}$ C.

— Solution de chlorhydrate de N- α -naphtyl-N'-diéthylpropylène diamine, 2 HCl à 0,05 p. 100 dans l'éthanol à 95° . Conserver à $+4^{\circ}$ C dans un flacon coloré.

— Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 15 p. 100.

— Solution de β -naphtylamine à 3,425 10^{-4} M. Préparer une solution mère : 48,9 mg de β -naphtylamine, 50 ml d'éthanol à 95° , eau q.s.p. 100 ml.

La solution aqueuse à 4,89 mg p. 100 ml s'obtient par dilution au 1/10 de la solution mère.

Protocole opératoire.

Nous faisons incuber, pendant une heure, dans un bain-marie équipé d'un thermostat réglé à 37° C :

chaque essai représenté par un ml de préparation enzymatique et un ml de solution de substrat 3,425 10^{-4} M, en tampon phosphate 0,2 M de pH 7,0

et les témoins

To (hydrolyse spontanée) : un ml d'eau distillée + un ml de solution de substrat 3,425 10^{-4} M.

T₁ (afin de déceler la présence de substances diazotables dans la préparation enzymatique) : un ml de tampon phosphate pH 7,0 + un ml de préparation enzymatique.

La réaction est arrêtée par addition de un ml d'acide trichloracétique à 15 p. 100. Celui-ci précipite les protéines de la préparation enzymatique. Après centrifugation, nous prélevons, pour la réaction de coloration, un ml de surnageant

(*) Chlorhydrate de L-leucyl- β -naphtylamide : SIGMA 3.500 De Kalb Street, Saint-Louis 18, Missouri, U.S.A. ou MANN Research Laboratories, New-York 6, N.Y. Importé par Serlabo, 26, rue Saint-Gilles, Paris-3^e.

auquel nous ajoutons successivement, à la température du laboratoire (20° environ) :

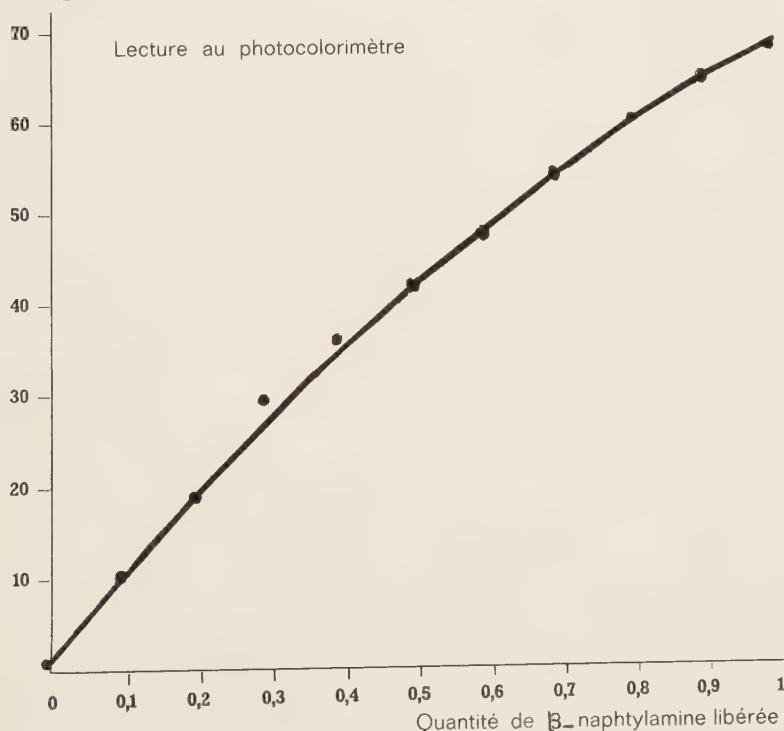
— un ml de nitrite de sodium à 0,1 p. 100 (agiter, puis repos pendant 3 minutes).

— un ml de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. 100 (agiter puis repos pendant 2 minutes).

— trois ml de solution alcoolique de N- α -naphtyl-N'-diéthylpropylène diamine, 2 HCl à 0,05 p. 100. La teinte mauve caractéristique se développe, à 25° C, après un repos de 20 à 60 minutes. Nous faisons la lecture au photo-colorimètre à 560 m μ , après 60 minutes.

L'étalonnage est pratiqué avec la solution de β -naphtylamine à 4,89 mg p. 100 dont les volumes de 0 - 0,1 - 0,2 - 0,9 - 1 ml, additionnés de 1 - 0,9 - 0,8 - 0,1 - 0 ml d'eau, sont mis à la place du substrat et auxquels nous ajoutons un ml de tampon phosphate de pH 7,0, puis un ml d'acide trichloracétique à 15 p. 100, avant de faire, sur un ml de ce mélange, la réaction de coloration décrite ci-dessus.

Nous obtenons ainsi une gamme de tubes colorés correspondant respectivement à 0, 10,, 90 et 100 p. 100 d'hydrolyse, ce qui nous a permis d'établir la courbe d'étalonnage ci-après.



C. — EXPRESSION DES RÉSULTATS.

Nous exprimons les résultats en unités plus ou moins arbitraires, selon la technique de Goldbarg et Rutenburg modifiée (123) que nous avons adopté pour nos dosages, et qui donne :

Une unité = 0,0417 γ de β -naphtylamine libérée en une heure, à 37° C.

Après lecture au photolorimètre, nous portons le résultat obtenu en ordonnées de la courbe d'étalonnage ci-contre, et nous obtenons, en abscisses, la quantité de β -naphtylamine qui a été libérée.

Le sommet de la courbe correspondant à 49 γ de β -naphtylamine libérée, soit $\frac{49}{0,0417} = 1.200$ unités, nous obtenons

le résultat directement en unités, en multipliant par 1.200 le chiffre que nous avons obtenu en abscisses.

D. — RÉSULTATS DES DOSAGES.

Au début de notre travail, nous avons établi une moyenne du taux normal de la L.A.P. sérique, dans nos conditions expérimentales, en effectuant des dosages chez des sujets apparemment normaux du Centre de Transfusion.

Les résultats ont été :

Hommes (14 dosages)	Femmes (9 dosages)
845	811
817	665
894	714
881	640
752	696
917	717
724	858
805	898
755	744
746	
611	
664	
746	
728	

Nous avons ainsi obtenu une moyenne de :

820 unités chez l'Homme,

730 unités chez la Femme,

et comme limite supérieure de normalité :

920 unités chez l'Homme,

860 unités chez la Femme.

Quant à notre étude des variations de l'activité leucine

aminopeptidasique dans diverses affections pathologiques, elle a porté sur 51 cas se répartissant ainsi :

Affection du foie et des voies biliaires : 15 cas.

Affections du rein : 6 cas.

Affections néoplasiques : 11 cas.

Grossesses normales ou pathologiques : 21 cas.

Dans la plupart des observations, plusieurs dosages ont été effectués sans montrer de différences importantes. Nous nous contentons, donc, d'exprimer le résultat obtenu à l'acmé de la maladie, au moment où les tests biologiques pratiqués étaient les plus perturbés, exception faite, cependant, des cas pour lesquels plusieurs dosages semblent utiles pour suivre l'évolution de la maladie.

MALADIES DU FOIE ET DES VOIES BILIAIRES

I. — *Cirrhoses.*

1. BOU... Renée, 37 ans.

L.A.P. : 2000

Cette malade qui présente une cirrhose méta-ictérique, est hospitalisée pour des hémorragies digestives très importantes.

Anémie à 1.130.000 G.R. à l'admission.

Les examens de laboratoire pratiqués montrent l'importance de l'atteinte du parenchyme hépatique :

Protides totaux : 56 g/l; Albumines : 22 g/l; Globulines : 34 g/l.

Tests de floculation perturbés.

Rapport cholestérol estérifié/total : 0,42.

Après une amélioration transitoire, l'évolution vers l'exitus s'effectue dans un tableau d'ictère grave.

2. DEB... Adrien, 64 ans.

L.A.P. : 806

Ce malade présente le tableau clinique d'une cirrhose du foie : hépatomégalie, légère ascite, dont l'interrogatoire révèle l'origine éthylique.

Les examens de laboratoire confirment cette atteinte hépatique en mettant en évidence : une perturbation du protéinogramme par baisse de la sérum-albumine (32 g/l), une diminution de la cholestérolémie à 1,30 g/l, et un taux de prothrombine spontanément abaissé à 64 %.

3. PAG... Camille, 28 ans.

L.A.P. : 1305

Cette malade présente une intoxication éthylique aiguë avec

atteinte hépatique et neurologique. Une hématomélie importante a provoqué son hospitalisation.

Les examens de laboratoire pratiqués montrent une atteinte modérée mais nette de la fonction hépatique :

Protides totaux : 57,6 g/l; Albumines : 31,3 g/l; Globulines : 26,3 g/l.

Perturbation des tests hépatiques.

4. PEL... Hélène, 50 ans.

L.A.P. : 1098

Cette malade présente une insuffisance ventriculaire droite ancienne avec retentissement hépatique. Au moment de son admission, le tableau clinique que présente cette malade est celui d'une insuffisance cardiaque décompensée.

L'atteinte hépatique est importante : hépatomégalie douloureuse, ascite volumineuse qui nécessite plusieurs ponctions, et le laboratoire confirme la gravité de l'insuffisance hépatique :

Sérum-albumine : 27 g/l; Sérum-globuline : 27 g/l.

Chute de la cholestérolémie (1,30 g/l).

Taux de prothrombine spontanément diminué (23 %).

5. RIZ... Georges, 50 ans.

L.A.P. : 1010

Ce malade présente un tableau de cirrhose alcoolique du foie : ascite modérée, subictère, hépatomégalie douloureuse.

Les épreuves de laboratoire confirment l'atteinte fonctionnelle hépatique :

Sérum-albumine : 28 g/l, et le rapport A/G : 0,94.

Cholestérol sanguin diminué (1,45 g/l).

Epreuve à la B.S.P. positive.

6. THE... Lucie, 76 ans.

L.A.P. : 1200

Le tableau clinique que présente cette malade est en tous points semblable au précédent, et l'interrogatoire révèle, là aussi, l'origine éthylique de l'affection.

Les épreuves biologiques mettent en évidence : une perturbation des tests de floculation, une diminution de la sérum-albumine (24,6 g/l) avec un rapport A/G = 0,88, un taux de prothrombine spontanément abaissé à 60 %.

7. TRO... Marie, 76 ans.

L.A.P. : 1063

Malade présentant une insuffisance hépatique mise en évidence, sur le plan biologique, notamment par une altération du protéinogramme : diminution de la sérum-albumine (22,3 g/l) et baisse du rapport A/G = 0,77.

II. — *Ictères par rétention.*

1. CHE... Andrée, 53 ans.

L.A.P. : 1209

Cette malade avait été opérée antérieurement d'un kyste de l'ovaire, et, une deuxième fois, pour lithiasé vésiculaire. Elle est hospitalisée de nouveau pour douleur abdominale et éventration. La laparotomie révèle de nombreuses adhérences à la paroi et de l'estomac au foie. L'intervention consiste en une libération, complétée par une épiploectomie.

Trois jours après, on assiste à l'installation d'un ictère par rétention. Une nouvelle intervention est décidée, mais ne permet pas de découvrir d'obstacle. Il est pratiqué une anastomose cholédoco-duodénale. L'ictère disparaît en quelques jours.

2. DEH... Victor, 68 ans.

L.A.P. : 1089

Ce malade est hospitalisé pour ictère. Les examens pratiqués permettent de poser le diagnostic d'ictère par rétention provoqué par une importante réaction de périviscérite consécutive à un ulcère perforé et bouché du bulbe duodénal.

Sous l'influence du traitement anti-inflammatoire, on constate une nette régression des signes cliniques et biologiques :

La bilirubine sérique passe de 112 mg/l à 13 mg/l, la phosphatase alcaline passe de 15,5 U.B. à 4,3 U.B. Les dosages consécutifs de la L.A.P. sérique permettent de constater un retour progressif à la normale, le dernier dosage pratiqué donnant un taux de 869.

3. M... Louis, 61 ans.

L.A.P. : 975

Gastrectomisé en 1960, puis opéré de nouveau en 1963 (laparotomie) pour récurrence néoplasique, non pas sur l'estomac, mais dans le pédicule hépatique, ce malade présente, actuellement, des troubles de compression de ce pédicule avec ictère.

Bilirubinémie : 175 mg/l.

Phosphatase alcaline : 16,4 U.B.

Par contre le laboratoire ne met en évidence aucun signe d'une atteinte cellulaire hépatique.

4. FO... Noël, 70 ans.

L.A.P. : 880

Ce malade est hospitalisé pour ictère. Les examens complémentaires en montrent l'origine rétentionnelle, et la laparotomie précise qu'il s'agit d'un cancer de la tête du pancréas.

Bilirubine sérique : 230 mg/l.

Phosphatase alcaline : 16,6 U.B.

5. JUL... Gabrielle, 31 ans.

L.A.P. : 1305

Cette malade est hospitalisée pour crises de coliques hépatiques violentes et très fréquentes, non accompagnées d'ictère.

L'intervention est décidée, mais elle ne permet pas de déceler d'obstacle organique, ni la présence de lithiase. La région du pédicule hépatique est très œdématiée et jaune.

Le laboratoire ne met en évidence aucune perturbation des épreuves hépatiques.

III. — *Cancers du foie.*

1. GRO... Marie-Louise, 58 ans.

L.A.P. : 963

A l'admission, cette malade présente une ascite importante avec un foie augmenté de volume, lisse, ligneux, peu douloureux.

Les examens de laboratoire mettent en évidence une atteinte sévère de la fonction hépatique : perturbation du protéinogramme par chute de la sérum-albumine (25,2 g/l), diminution spontanée du taux de prothrombine (41 %). L'examen du liquide d'ascite montre la présence de cellules mitotiques.

Le diagnostic de cancer primitif du foie est retenu.

2. HOR... Constance, 34 ans.

L.A.P. : 1058

Hospitalisée pour crises douloureuses dans l'hypocondre droit, cette malade est, par ailleurs, porteuse d'un cancer de l'utérus.

La laparotomie met en évidence de nombreux calculs vésiculaires avec péricholécystite, et, de plus, une métastase hépatique de son néoplasme utérin.

3. DEL... Térésa, 51 ans.

L.A.P. : 928

Opérée, quatre ans auparavant, d'un cancer du sein, puis ayant subi une castration, cette malade présente, actuellement, un subictère.

L'examen clinique montre un foie dur, marronné, accompagné d'une volumineuse ascite.

Les épreuves biologiques pratiquées montrent une atteinte fonctionnelle hépatique importante, notamment un taux de prothrombine spontanément diminué à 48 %.

De l'étude des résultats ainsi obtenus, nous observons, tout d'abord, que chez nos malades présentant une affection hépatique ou biliaire, et quelle que soit l'atteinte présentée, l'augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum est retrouvée d'une façon à peu près constante, bien que modérée.

Dans les cirrhoses, l'augmentation de cette activité semble refléter assez bien la gravité de la maladie. L'étude comparée du taux de la L.A.P. sérique, d'une part, et des signes cliniques et biologiques, d'autre part, semble bien montrer que

l'augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum est d'autant plus intense que l'atteinte hépatique est plus grave.

Dans les ictères par rétention, l'augmentation du taux de la L.A.P. sérique est constante. L'étude du cas n° 2 semble montrer que la rétention, en elle-même, joue un rôle important dans les variations de ce taux, puisque la levée de l'obstacle le ramène à la normale. Mais les cas n° 3 et n° 4 tendent à montrer que cette augmentation n'est pas en rapport direct avec l'élévation du taux de la bilirubine sérique. De plus, l'observation n° 5 montre que l'inflammation, à elle seule, des voies biliaires, en l'absence même d'ictère, peut donner une élévation importante du taux de la L.A.P. sérique.

Enfin, les cancers du foie semblent bien donner constamment une augmentation de ce taux, mais une augmentation modérée; le cas n° 2, plus complexe, puisqu'il associe une cholécystite lithiasique au cancer, ne pouvant être retenu.

MALADIES DU REIN

1. CAS... Honorine, 85 ans.

L.A.P. : 1020

Cette malade qui présente, depuis plusieurs années, un syndrome néphrotique, est hospitalisée pour poussée d'insuffisance rénale.

L'oligurie est importante. Les œdèmes volumineux donnent un tableau d'anasarque.

Les examens de laboratoire montrent :

Albuminurie à 12 g/l;

Urée sanguine à 1,13 g/l;

Concentration uréique urinaire : 13 g %;

Protéïnémie à 51 g/l; sérum albumine : 28 g/l; globulines : 33 g/l;

Cholestérolémie : 7,12 g/l.

2. COL... Jean-Louis, 63 ans.

L.A.P. : 787

Ce malade présente une néphrite aiguë mise en évidence par les examens de laboratoire :

Albuminurie à 6 g/l;

Urée sanguine à 1,60 g/l.

Compte d'Addis perturbé :

Débit des hématies/minute : 12.480;

Débit des leucocytes/minute : 24.000.

La nature infectieuse de l'affection est confirmée par la

numération-formule sanguine : 13.700 leucocytes, dont 77 % de polynucléaires neutrophiles.

3. GRA... Arthur, 62 ans.

L.A.P. : 517

Ce malade présentait une tuberculose rénale pour laquelle il a dû subir, il y a une vingtaine d'années, une néphrectomie.

Depuis trois ans, ce malade présente des signes de cystite.

La présence de B.K. dans les urines, et l'urée sanguine oscillant entre 1 g/l et 1,5 g/l confirment l'envahissement secondaire du rein restant.

L'intervention consiste simplement en une néphrostomie.

4. GAC... Aimée, 62 ans.

L.A.P. : 785

Cette malade présente une néphrite chronique depuis de nombreuses années. Au moment de son admission, l'atteinte de la fonction rénale est très importante, et l'évolution se fait vers l'exitus dans un tableau de décompensation rénale irréversible.

Urée sanguine à 7 g/l.

Réserve alcaline : 20 volumes.

5. MOR... Carlos, 18 ans.

L.A.P. : 1104

Ce malade présente un syndrome néphrotique avec des signes de néphrite.

L'examen des urines met en évidence une albuminurie importante, ainsi que la présence de corps biréfringents. De plus il existe une hématurie microscopique importante : 100.000 hématies/minute.

Les examens du sang montrent : une vitesse de sédimentation accélérée : 94 mm à la première heure; des perturbations à l'électrophorèse avec diminution des protides totaux par chute de la sérum albumine (35 g/l), avec une hyper- α_2 ; une hyperlipidémie à 16 g/l et un taux de cholestérol sanguin à 4 g/l.

Urée sanguine et concentration uréique urinaire sont normales.

6. PLA... Martin, 52 ans.

L.A.P. : 1048

Ce malade présente une néphrite chronique hypertensive.

Les examens de laboratoire mettent en évidence l'importance de l'atteinte rénale :

Urée sanguine oscillant entre 3 g/l et 4 g/l;

Concentration uréique urinaire inférieure à 10 g/l;

Clearance perturbée :

1^{re} miction : volume total des urines : 50 cc; urée sanguine :

2,24 g/l; urée urinaire : 6,50 g/l;

2^e miction : volume total des urines : 80 cc; urée urinaire : 7 g/l.

Bien que notre étude des variations de la leucine aminopeptidase du sérum, dans les affections rénales, n'ait porté que sur un nombre trop restreint de cas pour pouvoir en tirer des conclusions, il apparaît cependant que nous enregistrons une augmentation assez nette du taux sérique de cette diastase dans les trois cas où l'atteinte rénale paraît être la plus sérieuse, alors que nous n'enregistrons aucune variation dans le cas de néphrite aiguë infectieuse.

Il semblerait donc que, si l'atteinte rénale est réversible, on ne note pas de variations de la L.A.P. sérique. Par contre, en cas d'atteinte importante du parenchyme rénal, il semblerait que l'activité leucine aminopeptidasique du sérum soit augmentée. L'observation n° 4, pour laquelle nous trouvons un taux sérique normal de la L.A.P., ne paraît pouvoir infirmer cette supposition, étant donné que le dosage a été effectué au stade ultime de la maladie, au moment où la fonction rénale semblait totalement abolie.

AFFECTIONS NÉOPLASIQUES

1. ABA... Alice, 46 ans.

L.A.P. : 1020

Cette malade présente une volumineuse masse néoplasique de l'utérus. L'atteinte de l'état général, et notamment la cachexie, est très importante.

Les examens de laboratoire mettent en évidence une anémie, une hyperleucocytose avec polynucléose et une vitesse de sédimentation accélérée.

2. BIG... Elisabeth, 48 ans.

L.A.P. : 802

Cette malade, qui présente un cancer du sein inopérable, manifeste également une atteinte importante de l'état général.

Le laboratoire met simplement en évidence une anémie.

3. CHA... François, 61 ans.

L.A.P. : 718

Les examens de laboratoire montraient, chez ce malade à l'état général médiocre, une anémie à 2.600.000 G.R. et une leucopénie : 3.000 leucocytes. Les plaquettes sanguines étaient également diminuées : 120.000.

L'examen de la moelle osseuse permet de faire le diagnostic de lymphosarcome ganglionnaire, en mettant en évidence infiltration massive par des cellules lymphoblastiques.

4. FRA... Marie, 61 ans.

L.A.P. : 842

L'état général est encore assez bien conservé chez cette ma-

lade qui présente un cancer du sein inopérable.

Les examens de laboratoire ne mettent aucune anomalie importante en évidence.

5. GAB... Hélène, 63 ans.

L.A.P. : 929

Le diagnostic de maladie de Kahler qui a été évoqué pour cette malade par la constatation à l'électrophorèse de l'existence d'un « pic globulinique » extrêmement accentué au niveau des globulines β et γ : 57, 4 %, se voit confirmer par le myélogramme qui met en évidence un envahissement plasmocytaire abondant.

6. GAM... Simone, 62 ans.

L.A.P. : 1138

Cette malade présente un cancer du sein qui a provoqué l'apparition d'une pleurésie métastatique. Par ailleurs, il existe une très forte probabilité de métastases au niveau du bassin et des articulations coxo-fémorales.

7. JAM... Paule, 68 ans.

L.A.P. : 1048

Cette malade présente un cancer du sein très évolué avec présence de métastases osseuses.

Le laboratoire met en évidence une anémie récidivante en rapport avec une aplasie médullaire métastatique.

8. LAF... Jeanne, 85 ans.

L.A.P. : 1138

Cette malade présente une maladie de Paget qui est mise en évidence par les radiographies caractéristiques, et, notamment, la radiographie du crâne, une augmentation considérable des phosphatases alcalines : 68 U.B.

Il existe, également, une anémie importante : 2.500.000 G.R.

9. MOU... Jeanne, 60 ans.

L.A.P. : 1048

Cette malade présente un cancer de l'estomac.

Les examens de laboratoire montrent une anémie, une légère leucocytose et une vitesse de sédimentation modérément accélérée.

10. POP... Gabriel, 58 ans.

L.A.P. : 617

Ce malade présente un ulcère duodéal pour lequel l'intervention est décidée.

Au cours de l'opération, on constate la présence d'une tumeur du corps du pancréas.

11. SOU... Madeleine, 58 ans.

L.A.P. : 929

Cette malade présente une tumeur maligne de l'ovaire ayant provoqué l'apparition de métastases pulmonaires et péricardiques.

L'atteinte de l'état général est extrême.

Dans les affections néoplasiques, nous constatons que, sur les onze cas étudiés, le taux sérique de la leucine aminopeptidase est normal ou très modérément augmenté dans cinq observations, alors que l'élévation est nette, tout en restant modérée, dans les six autres cas. Dans ces conditions, il nous paraît difficile de conclure, d'une part à cause de la contradiction des résultats que nous obtenons, d'autre part à cause de la diversité, que nous connaissons, des causes d'augmentation du taux de la L.A.P. sérique.

Bien que les examens pratiqués conjointement aient permis d'éliminer une atteinte hépatique évidente, il ne nous est pas possible de prouver que, dans certains cas, il n'ait pas existé une métastase hépatique cliniquement inapparente.

Cependant, il paraît au moins aussi vraisemblable que l'augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum soit liée à la gravité de l'atteinte de l'état général et à l'importance des métastases. En faveur de cette hypothèse vient s'ajouter le fait que nous retrouvons une augmentation de cette activité dans un cas de maladie de Kahler (observation n° 5) et un cas de maladie de Paget (observation n° 8).

GROSSESSE

Notre étude de l'activité leucine aminopeptidasique au cours de la grossesse a consisté à effectuer des dosages de cette activité dans le sérum de la femme enceinte aux différents stades de la gestation.

Bien qu'il ne nous ait pas été possible de répéter nos dosages chez les mêmes patientes, nous avons pu, cependant, observer, sur l'ensemble des cas étudiés, l'augmentation du taux de la L.A.P. sérique qui se manifeste au cours de la grossesse.

Age de la grossesse	Nombre de cas	Valeur de la L.A.P. sérique
2 mois et demi-3 mois	4	775 - 770 790 - 765
5 mois	2	823 - 850
6 mois	2	953 - 1.058
7 mois	3	928 - 940 1.000 (gémellaire)
8 mois	3	953 - 1.040 1.000
A terme	5	1.058 - 1.000 - 1.048 1.000 - 1.034

Cas pathologiques :

Terme dépassé probable de 15 jours	953
Mort fœtale « in utero » (à terme)	787

Dans la grossesse normale, nous constatons bien une augmentation du taux de la leucine aminopeptidase sérique d'autant plus importante que l'âge de la grossesse est plus avancé. Il semble, également, que cette élévation se manifeste assez tôt, dès les premiers mois. En effet, les résultats que nous avons obtenus dans les premiers mois de la gestation, bien que demeurant dans les limites normales, sont tous supérieurs à la moyenne de la normalité que nous avons établie chez la Femme.

Par ailleurs, sans que nous ayons pu expérimenter sur un grand nombre de cas, les dosages que nous avons effectués, d'une part, dans un cas de grossesse à terme dépassé probable, d'autre part, dans un cas de mort fœtale « *in utero* », en montrant une baisse de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum par rapport à celles que nous enregistrons dans les cas de grossesse normale à terme, semblent confirmer les résultats des travaux de Kleiner et coll. (64, 65).

E. — DISCUSSION.

De l'étude des variations de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum au cours des affections pathologiques que nous avons observées, il résulte que :

Dans les affections du foie et des voies biliaires, l'élévation du taux de la L.A.P. sérique est retrouvée à peu près constamment, bien que, en général, d'une façon modérée, et ceci quelle que soit l'atteinte présentée. Ces résultats confirment donc, dans ce domaine, les précédentes publications, bien que nous retrouvions une augmentation constante dans les cirrhoses, ce qui n'est pas admis par tous les auteurs. Mais nous avons vu, également, que cette anomalie peut être expliquée par le fait qu'il existe très souvent une stéatose associée importante.

Dans les affections rénales, nous avons vu que les auteurs ne retrouvent généralement pas de variations significatives du taux de la leucine aminopeptidase sérique. Bien que, nous le répétons, le nombre de cas qu'il nous a été donné d'étudier soit trop nettement insuffisant pour que nous puissions émettre une hypothèse valable, il nous a paru, cependant, que le taux de la L.A.P. sérique pourrait être augmenté dans les cas où il existe une atteinte parenchymateuse importante.

Nous pensons qu'une étude plus complète, portant sur un grand nombre de cas, est nécessaire pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Dans les formations néoplasiques, les résultats que nous obtenons sont contradictoires puisque l'augmentation n'est retrouvée que dans la moitié des cas environ. Cependant, il semble bien que l'élévation de cette activité diastasique soit

fonction de l'importance des métastases, et, notamment, des métastases osseuses. Toutefois, il ne nous est pas possible, pour expliquer cette augmentation, d'exclure, formellement, dans tous les cas, l'existence éventuelle de métastases hépatiques. Mais le fait de constater une augmentation d'activité diastasique chez un malade, présentant une maladie de Kahler et un malade présentant une maladie de Paget, paraît bien être en faveur de notre hypothèse.

Enfin, dans la grossesse, l'élévation du taux de la leucine aminopeptidase du sérum que nous constatons, et qui est proportionnelle à l'âge de la gestation, est bien conforme à celle décrite par les auteurs. Il en est de même pour les deux cas de grossesse pathologique que nous avons observés.

Résumé et Conclusions

Dans une première partie, purement bibliographique, nous avons évoqué les principales recherches concernant la leucine aminopeptidase, son dosage, sa répartition chez l'homme, dans les tissus et dans les liquides physiologiques, sa spécificité, son hétérogénéité.

Dans une deuxième partie, elle aussi bibliographique, nous avons envisagé l'intérêt clinique que peut présenter le dosage de cette diastase dans le sérum. Pour cela, nous avons effectué une revue succincte des principales publications concernant les variations du taux de la L.A.P. dans le sérum de malades présentant des affections pathologiques variées et, plus particulièrement, des affections du foie, des voies biliaires et du pancréas, des affections néoplasiques et, enfin, au cours de la grossesse. Nous avons pu constater que l'intérêt d'un tel dosage n'est pas admis d'une façon unanime, bien que, nous l'avons vu, l'on puisse considérer qu'il peut être un appoint précieux à la clinique et aux différents tests biologiques dans le diagnostic de certaines affections et, notamment, dans le diagnostic de métastases hépatiques ou de certaines grossesses pathologiques.

Dans une troisième partie, expérimentale, nous avons étudié les variations du taux de la leucine aminopeptidase sérique chez 51 malades, tous hospitalisés dans les différents services du Centre Hospitalier de Vichy.

Auparavant, nous avons établi la moyenne du taux sérique normal de la L.A.P., dans nos conditions expérimentales, en effectuant 23 dosages chez des sujets apparemment normaux du Centre de Transfusion de Vichy. Nous avons obtenu :

820 unités pour l'Homme,

730 unités pour la Femme,

et comme limite supérieure de la normalité :

920 unités chez l'Homme,

860 unités chez la Femme.

Quant aux résultats des dosages effectués dans les cas pa-

thologiques que nous avons étudiés, ils peuvent se résumer ainsi :

Dans les affections du foie et des voies biliaires nous constatons une augmentation à peu près constante de ce taux, mais une augmentation le plus souvent modérée, la plus importante (2.000 U.) étant retrouvée dans un cas de cirrhose méta-ictérique avec atteinte sévère du parenchyme hépatique. Et cette augmentation se manifeste aussi bien dans les cirrhoses, où elle semble fonction de la gravité de l'affection, que dans les ictères par rétention, ou les cancers du foie.

Dans les maladies du rein, les résultats sont variables, mais il semble bien que, si l'atteinte du parenchyme rénal est importante, on enregistre, dans ces cas, une augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum.

Les affections néoplasiques semblent, également, pouvoir donner une augmentation du taux sérique de cette diastase, sans que nous puissions en attribuer, formellement, la responsabilité à une infiltration secondaire du foie ou à une formation intense de métastases. Cependant, la constatation d'une activité leucine aminopeptidasique élevée dans un cas de maladie de Paget et un cas de myélome multiple des os semble bien être en faveur de la deuxième alternative.

Enfin, le sérum maternel, au cours de la gestation, manifeste bien une augmentation d'activité d'autant plus importante que l'âge de la grossesse est plus avancé. Et, par ailleurs, la possibilité, par la détermination du taux de la L.A.P. sérique, de confirmer le diagnostic de mort fœtale « *in utero* » ou d'insuffisance placentaire, semble vérifiée par les résultats que nous avons obtenus dans les deux cas de grossesse pathologique qu'il nous a été donné d'étudier.

En conclusion, il semble résulter, essentiellement, de cette étude, que l'augmentation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum n'est pas spécifique d'une affection donnée, ni même de l'atteinte d'un système donné, et, donc, que la pratique d'un tel dosage ne paraît pouvoir présenter un intérêt, pour le clinicien, qu'après une stricte confrontation avec le contexte clinique, d'une part, et les différents tests de laboratoire, d'autre part.

Cependant, si cette multiplicité apparente des causes de variation du taux de la leucine aminopeptidase sérique peut paraître trop complexe pour être utilisée, en pratique cou-

rante, sans discussion serrée, les travaux récents qui portent sur l'hétérogénéité de cette diastase, et que nous avons évoqués au premier chapitre, apportent un sérieux espoir quant au rôle diagnostic que pourrait avoir la détermination des isoenzymes de la L.A.P.

En effet, l'apparition dans le sérum de chacune de ces fractions serait plus spécifique de l'atteinte d'un organe déterminé que l'augmentation globale du taux sérique de la L.A.P., et, dans ces conditions, il semble bien que cette détermination pourrait avoir une importance considérable en Clinique humaine.

Le 28 mars 1966.

Vu, bon à imprimer.

Le Président de Thèse,

G. DASTUGUE.

Le 28 mars 1966.

Vu.

G. MEYNIEL.

Clermont-Ferrand, le 30 mars 1966.

Vu et permis d'imprimer n° 24/66.

Le Recteur,

E. LAPALUS.

Bibliographie

1. AGOSTONI A. et TITTOBELLO A. — A method for electrophoretic fractionation of serum leucine aminopeptidase. — *Biol. Sper.*, 1964, 40 (24), 2073-74.
2. ARST H.E., MANNING R.T. et DELP M. — L'activité sérique de l'aminopeptidase de leucine, observations dans le cancer du pancréas, la grossesse et autres manifestations. — *Am. J. Med. Sc.*, 1959, 238 (5), 598-609.
3. ARVY L., RUCART G. et RACINE G. — Présence d'activités leucyl- β -naphtylamidase dans le tissu langhérien d'Anas boschas. — *Soc. Biol. Fr.*, 1963, 157 (4), 727-729.
4. BALLADE Ch. et BASTIDE P. — Activités leucine aminopeptidasique, lactico-déshydrogénase et phospho-hexose-isomérisation de la rétine de bovidés. — *C.R. Biol. Soc.*, 1963, 157, 540.
5. BALLADE Ch., OGIER R., FRAUX J., BASTIDE P. et DASTUGUE G. — Activités enzymatiques du thymus lymphatisé d'agneau (aspirine-estérase, phosphatases acide et alcaline, β -glucuronidase, leucine aminopeptidase, L-déshydrogénase, glucose-6-phosphate-déshydrogénase, fructose-1-6-diphosphoaldolase, phospho-exose-isomérisation). — *C.R. Soc. Biol.*, 1964, 158, 836.
6. BANKS B.M., PINEDA E.P., GOLDBARG J.A. et RUTENBURG A.M. — Valeur clinique du dosage de la leucine aminopeptidase sérique. — *New Engl. J. Med.*, 1960, 263 (25), 1277-1281.
7. BASTIDE P., BAUDON J. et CARCASSIN M. — Les enzymes placentaires, 1^{re} partie : répartition et effecteurs. — *Biol. Méd.*, 1960, 5, 467-501.
8. BASTIDE P., BAUDON J., MEUNIER S. et DASTUGUE G. — Activité leucine aminopeptidase dans le placenta, le sang maternel et celui du nouveau-né. — *Ann. Biol. Clin.*, 1961, n° 5-6.
9. BASTIDE P., TRONCHE P., MEUNIER M.-Th. et BALLADE C. — Activités enzymatiques au niveau de l'humeur aqueuse et du corps vitré chez les bovidés (leucine aminopeptidase, transaminases, phospho-hexose-isomérisation, aldolase). — *XI^e Congrès Soc. Pharm. du Sud de la Loire*, Toulouse, 1961.
10. BASTIDE P. — Etude critique et expérimentale des activités enzymatiques dans l'humeur aqueuse et le corps vitré. — *Th. Doc. Méd.*, Clermont-Ferrand, nov. 1961.
11. BASTIDE P., SIMON E., SAINT-MARC J. et DASTUGUE G. — Activité leucine aminopeptidasique au cours de la conservation du sang. — *Journ. Physiol.*, 1962, 2, 287.

12. BASTIDE P., BAUDON J. et MENUT G. — Aperçu sur quelques activités enzymatiques comparées dans le sang maternel, le sang du nouveau-né et l'homogénat de tissu placentaire. — *Soc. Fr. Pédiatr.* (section de Montpellier), séance du 21-1-1963.
13. BASTIDE P., BALLADE C. et DASTUGUE G. — Activités 5-nucléotidasique (A.M.P.ase), leucine aminopeptidase (L.A.P.), adénosine-triphosphatique (A.T.P.ase), lactico-déhydrasique (L.D.H.) et phospho-hexose-isomérasique (P.H.I.) dans les humeurs et extraits d'organes d'Hélix pomatia L. — *J. Physiol. Fr.*, 1963, 55 (2), 194-195.
14. BASTIDE P., PLAT P.M., LAPORTE J. et DASTUGUE G. — De la répartition de quelques activités enzymatiques (Aspirine-estérase, Leucine aminopeptidase, Transaminase T.G.O. et T.G.P., L-déshydrogénase, Phospho-hexose-isomérase) au niveau des différents constituants du sang de cheval : Erythrocytes, Leucocytes, Thrombocytes, Plasma. — *C.R. Soc. Biol.*, 1964, 158, 1517.
15. BAUDON J., BASTIDE P. et CARCASSIN M. — Les enzymes placentaires, 2^e partie : quelques aspects de leur rôle physiopathologique. — *Biol. Méd.*, 1960, 6, 571-581.
16. BECHMAN L., SCANDALIOS J.G. et BREWBAKER J.L. — Genetics of Leucine aminopeptidase isoenzymes in Corn. — *Genetics*, 1964, 50 (5), 899-904.
17. BENGT K. — Serum leucine aminopeptidase in icterus of the newborn. — *Acta Paediatr.*, 1964, 53, 158-164.
18. BOIS P. — Leucine aminopeptidase activity in muscles of dystrophic mice. — *Experientia*, 1964, 20 (3), 140-141.
19. BOIVIN P. et FAUVERT R. — Valeur comparée du dosage de quelques activités enzymatiques sériques en pathologie hépatique. — *Presse Médicale*, 19 déc. 1964, 72 (54), 3271-3274.
20. BOYER J. — Quelques activités enzymatiques du tissu prostatique chez diverses espèces animales, et leurs variations sous l'influence de traitements médicamenteux. — *Th. Doc. Pharm.*, Clermont-Ferrand, fév. 1964.
21. BRATTON A.C. et MARSHALL E.J. — New coupling component for sulfanilamide determination. — *J. Biol. Chem.* 1939, 128, 537.
22. BRAUN P., PAPP M., NEMETH E.P. et HORWATH I. — Serum leucine aminopeptidase activity ; clinical and experimental studies. — *Gastroenterol.* (Basel), 1961, 95, 57.
23. BRAUN-FALCO O. et SALFELD K. — Comportement de l'activité de la L.A.P. dans le sérum sanguin et dans le contenu de la vessie, 1^{re} communication : recherches sur les sujets à peau saine. — *Arch. Klin. Experim. Derm.*, 1957, 204 (5), 407-415.

24. BRESSLER R., FORSYTH B.R. et KLATSKIN G. — Serum leucine aminopeptidase activity in the hepatobiliary and pancreatic disease. — *Gastroenterol.*, 1961, 95 (1), 56-60.
25. BRYCE G.F., RABIN B.R. — Fonction de l'ion métal dans la Leucine aminopeptidase, et le mécanisme d'action de l'enzyme. — *Biochem. J. Londres*, 1954, 90, 449-655.
26. BURSTONE M.S. — Histochemical demonstration of proteolytic activity in human neoplasms. — *J. Natl. Cancer Inst.*, 1956, 16, 1149.
27. CHEVALIER M.C. — Sur les variations enzymatiques de certains hémolysats en fonction de la dilution, de l'espèce et de l'enzyme. — *Th. Doc. Pharm.*, Clermont-Ferrand, juin 1964.
28. CINQUE T. et Di CARLO E. — The L-leucine aminopeptidase test in the course of viral hepatitis of children. — *Aggiorn. Pediatr.*, 1964, 15 (10), 419-426.
29. COTTE J., FREYCON F., MATHIEU M. et COLLOMBEL C. — Enzymogramme sérique au cours des affections hépatiques de l'enfant et du nourrisson. — *Ann. de Pédiatr.*, 2 déc. 1965, 2898-2908.
30. DASTUGUE G., JACQUEMET L., BASTIDE P., SIMON E. et PLAT P.M. — A propos de quelques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine (Leucine aminopeptidase et Transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique). — *VIII^e Congrès de la Société Européenne d'Hématologie*, Vienne, août 1961, Basel, Karger éd., 1962.
31. DASTUGUE G., BASTIDE P. et CHEVALIER M.C. — De quelques activités enzymatiques de différents hémolysats en fonction de la dilution. — *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie. Séance du 14 mars 1962*, 153, n° 4, 648.
32. DASTUGUE G., BASTIDE P. et PLAT P.M. — L'équipement enzymatique des plaquettes sanguines. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 22, 227-234.
33. DELCOURT R. — Techniques de fractionnement des isoenzymes. — *Enzymol.*, 1964, 18.
34. FAUVERT R. et BOIVIN P. — Les enzymes sériques dans les maladies du foie. — *Monographies Annuelles de la Soc. de Biol. Clin.*, 1964, 303-332.
35. FLEISHER G.A., BUTT H.R. et HUIZENGA K.A. — Enzymatic hydrolysis in serum in hepatic disease. — *Proc. Staff. Mayo. Clin.*, 1957, 32, 410-424.
36. FLEISHER G.A., PANKOW M. et WARMKA C. — Leucine aminopeptidase in human serum. Comparison of hydrolysis of L-leucylglycine and L-leucyl- β -naphthylamide. — *Clin. Chim. Acta., Pays-Bas*, 1964, 9 (3), 259-268.

37. FOLK J.E. et BURSTONE M.S. — Chromogenic leucyl substrates for aminopeptidases and papain. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1955, 89, 473-476.
38. FYLLING P. — Serum and plasma leucine aminopeptidase activity during induction of labor. — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1964, 16 (2), 172-176.
39. GEORGE A.M., AUERBACH V.H. et MARRY C.C. — Leucine induced hypoglycemia. III. The blood depressant action of leucine in normal individuals. — *J. Pediatr. U.S.A.*, 1963, 63 (2), 259-302.
40. GIBINSKI K., SZATON R. et MARAZEK J. — Evaluation de la γ -glutamyltranspeptidase et de la Leucine aminopeptidase dans les maladies internes. — *Gastroenterol.*, 1963, 99, 237-246.
41. GILLES J.P., KRUGMAN S., ZIRING P., JACOBS A.M. et LATTIMER C. — Leucine aminopeptidase in infectious hepatitis. — *Am. J. Dis. Child.*, 1963, 105, 256.
42. GIUSTI G. et PICCINO F. — Serum leucine aminopeptidase activity. Proposed new method (of determination). — *Biochim. Appl.*, 1964, 11 (5), 198-210.
43. GOGGEL K.H., CREUTZFELDT W. et MURUCAS J. — The activity of leucine aminopeptidase and other enzymes in pancreatic and hepatobiliary diseases. — *Germ. Med. Month.*, 1961, 6, 399.
44. GOLDBARG J.A. et RUTENBURG A.M. — The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. — *Cancer*, 1958, 11, 283.
45. GOLDBARG J.A., PINEDA E.P. et RUTENBURG A.M. — The measurement of activity of Leucine aminopeptidase in serum, urine, bile and tissues. — *Am. J. Clin. Path.*, 1959, 32, 571.
46. GOMORI G. — Chromogenic substrates for aminopeptidases. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1954, 87, 559-561.
47. GREEN M.N., TSOU K.C., BRESSLER R. et SELIGMAN A.M. — The colorimetric determination of leucine-aminopeptidase activity with L-leucyl- β -naphthylamide, HCl. — *Arch. Biochem. and Biophysic.*, 1955, 57, 458.
48. GRENIER Ch. — De quelques activités enzymatiques des homogénats d'hématies suivant l'espèce animale et le degré de dilution. — *Th. Doc. Pharm.*, Clermont-Ferrand, nov. 1963.
49. GRIMMEN C.A. — Une étude de l'action de l'irradiation sur la leucine aminopeptidase sérique. — *Radiol.*, 1962, 78 (5), 811-815.
50. HAMMOND J.B., ROSENAK B. et KHOO E.C. — Leucine aminopeptidase et cancer du pancréas. — *Am. J. Digest. Dis.*, 1960, 5, 233-245.

51. HANSON H., BOHLEY P. et MANNSFELDT H.G. — Emploi de la L-leucyl- β -naphtylamide comme substrat spécifique pour le dosage de la Leucine aminopeptidase. — *Clin. Chim. Acta.*, 1963, 8 (4), 555-564.
52. HANSON H., GLAESSER D. et KIRSCHKE H. — Leucine aminopeptidase of cattle-eye lens. Crystallisation properties and optimal conditions of the enzyme. — *Z. Physiol. Chem.*, 1965, 340 (3), 107-125.
53. HARKNESS J., ROPER B.W., DURANT J.A. et MILLER H. — The serum leucine aminopeptidase test. An appraisal of its value in diagnosis of carcinoma of pancreas. — *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1787.
54. HASEGAWA J. — The hydrolysis of L-leucyl- β -naphtylamide by a previously undescribed enzyme in wheat germ. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 2 (4), 474-477.
55. HOFFMAN E., NACHLAS M.M., GABY S.D., ABRAMS S.J. et SELIGMAN A.M. — Limites de la valeur diagnostique de la leucine aminopeptidase du serum. — *New Engl. J. Med.*, 1960, 263 (11), 541-544.
56. HOLSTI L.R. — Serum enzyme activity during radiotherapy of malignant tumors. — *Brit. J. Cancer.*, 1965, 19 (1), 134-148.
57. HOPUSU V.K., RUPONEN S. et TALANTI S. — Leucine aminopeptidase in the foetal kidney of the rat. — *Experientia* (Basel), 1961, 17, 271-272.
58. HOPUSU V.K. et RUPONEN S. — Changes in kidney leucine aminopeptidase of rats after birth. — *Acta Physiol. Scand.*, 1962, 54, 111-115.
59. INNERFIELD I., LUONGO F., BLINCOE E. et GIMBLE F. — Peptidase activity in acute and subsiding liver injury. — *Life Sc.*, 1964, 3 (5), 451-458.
60. ISHIHARA K. — Hydrolysis of several chromogenic substrates by some peptidase activities in plasma and tissue homogenate. — *Seikagaku*, 1964, 36, 446-453.
61. JONEK J., KLIMKIEWICZ Z. et DZIECINCHOWICZ L. — Leucine aminopeptidase in various stages of human placenta. — *Zentr. Gynaekol.*, 1965, 87 (15), 514-520.
62. KAPLAN A. et RUARK S.R. — Leucine aminopeptidase du sérum. — *Am. J. Dis. Child.*, 1963, 106, 75-78.
63. KJELLMAN B. — Serum leucine aminopeptidase in icterus of the newborn. — *Acta Paediatr.*, 1964, 53 (2), 158-164.
64. KLEINER H., GRAFF G., VAN RYMENANT M. et ROSA P.P. — Activité leucine aminopeptidasique dans les grossesses pathologiques. — *Gynec. Obst.*, 1963, 62, 47.
65. KLEINER H. et VAN RYMENANT M. — Détermination de l'ocytocinase sérique dans l'insuffisance placentaire et la mort fœtale « in utero ». — *Rev. Fr. Ét. Clin. Biol.*, 1964, 9 (3), 321-323.

66. KOWLESSAR O.D., HAEFFNER L.J. et SLEISENGER M.H. — Localisation de la leucine aminopeptidase du sérum et des liquides corporels par l'électrophorèse sur gel d'amidon. — *J. Clin. Invest.*, 1960, 39 (4), 671-675.
67. KOWLESSAR O.D., HAEFFNER L.J., RILEY E.M. et SLEISENGER M.H. — Comparative study of serum leucine aminopeptidase, 5-nucleotidase, and non specific alkaline phosphorase in diseases affecting the pancreas hepatobiliary tree and bone. — *Am. J. Med.*, 1961, 31, 231.
68. KRESSER M. et WORASCHK H.J. — Determination of leucine aminopeptidase in extracts from the placenta and placental membranes as well as in the amniotic fluid during the early months of pregnancy. — *Z. Geburtshilfe Gynaekol.*, 1965, 164 (1), 76-80.
69. KRETSCHMER K. et HANSON H. — Crystallised leucine aminopeptidase of Cattle. 1. Physical constants. — *Z. Physiol. Chem.*, 1965, 340, 107-125.
70. LETTOW E. et JAEGER Ch. — Leucine aminopeptidase activity in the serum of pregnant bitch. — *Zentr. Veterinarmed.*, 1965, 12, 388-394.
71. LINDERSTROM-LANG. — Uber darmerepsin. — *Z. F. Physiol. Chem.*, 1929, 182, 151-174.
72. MALINOWSKA A. — Activity of leucine aminopeptidase in blood of healthy cattle, with consideration of hematological examinations. — *Med. Weterynar*, 1964, 20 (2), 673-676.
73. MANNING R.T. et DELP M.H. — Les enzymes sériques dans les syndromes abdominaux (L.A.P., G.O.T., G.P.T., Phosphatase alcaline). — *Am. J. Med. Sc.*, 1961, 242 (6), 756-760.
74. MARTINEK R.G., BERGER L. et BROIDA D. — Simplified estimation of leucine aminopeptidase activity. — *Clin. Chem.*, 1964, 10 (12), 1087-1097.
75. MEADE B.W. et ROSALKI S.B. — Localisation of leucine aminopeptidase iso-enzymes. — *J. Clin. Pathol.*, 1964, 17 (1), 61-63.
76. MERICAS G., AGNOSTON E., St HADZIYANNIS et KAKARI S. — The diagnostic value of serum leucine aminopeptidase. — *J. Clin. P. Pathol.*, 1964, 17 (1), 52-55.
77. MILLER Z.B., NAOR E., MILKOVICH L. et SCHMIDT M. — Serum levels of cystine aminopeptidase, leucine aminopeptidase and alkaline phosphatase in single and twin pregnancies. — *Obstet. Gynecol.*, 1964, 24 (5), 707-715.
78. MILLONIG R.C. — *J. Bac.*, 1956, 72, 301.
79. MONIS B., NACHLAS M.M. et SELIGMAN A.M. — Study of leucine aminopeptidase in neaplastic and inflammatory tissues with a new histochemical method. — *Cancer*, 1959, 12, 601.

80. MULLNER T., NEUMAYR A. et PIETSCHMANN H. — Valeur clinique du dosage de la leucine aminopeptidase sérique. — *Wien. Klin. Wschr.*, 1962, 74 (18), 321-324.
81. MUNCK B.G. et KJERLULF K. — Comparative investigations on the activity of leucine aminopeptidase, glutamic-oxalacetic transaminase and alkaline phosphatase in serum. — *Gut*, 1961, 2, 255.
82. MUSSA G.C. et PAVESIO D. — Influence of androisoxazole on serum leucine aminopeptidase. — *Minerva Pediatr.*, 1964, 16 (23), 848-853.
83. NACHLAS M.M., CRAWFORD D.T. et SELIGMAN A.M. — The histochemical demonstration of leucine aminopeptidase. — *J. Histochem.*, 1957, 5, 264.
84. NACHLAS M.M., GOLDSTEIN T.P. et SELIGMAN A.M. — An evaluation of aminopeptidase activity with seven chromogenic substrates. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1962, 97, 223-231.
85. NAKAGAWA S. et TSUJI H. — Electrophoretic separation of leucine aminopeptidase and leucyl- β -naphthylamide-splitting enzyme. — *Clin. Chim. Acta.*, 1964, 10 (6), 572-573.
86. NEVEU J., BASTIDE P. et BOYER J. — Activités enzymatiques dans l'adénome prostatique humain (leucine aminopeptidase, 5-nucléotidase, adénosine-triphosphatase, lactico-déshydrogène, phospho-hexose-isomérase). — *Ann. Biol. Clin.*, 1962, 79, 685.
87. D'ONOFRIO F., SGAMBATO S. et DRAMMIS E. — Serum leucine aminopeptidase in patients with liver and bile diseases. — *Fegato*, 1964, 10 (1), 50-64.
88. PEARSE A.G.E. et TREMBLAY G. — Leucine aminopeptidase in rat parathyroid and its relation to parathyroid hormone production. — *Nature*, 1958, 181, 1532-1533.
89. PINEDA E.P., GOLDBARG J.A., BANKS B.M. et RUTENBURG A.M. — Serum leucine aminopeptidase in pancreatic and hepatobiliary diseases. — *Gastroenterol.*, 1960, 38, 698.
90. PINEDA E.P., GOLDBARG J.A., LEVITAN R. et RUTENBURG A.M. — Leucine aminopeptidase and β -glucuronidase activity in cancerous and non cancerous effusions. — *Am. J. Dig. Dis.*, 1962, 7, 797.
91. PLAT P.M. — Activités enzymatiques des plaquettes sanguines chez l'homme normal. — *Th. Doc. Méd.*, Clermont-Ferrand, 1962.
92. PRUZANSKI W. et FISCHL J. — Evaluation of serum leucine aminopeptidase estimation; influence of the administration of steroids on serum leucine aminopeptidase activity in obstructive diseases of biliary tract. — *Am. J. Med. Sci.*, 1964, 248 (5), 581-587.

93. RENE R.M. et MELLINKOFF S.M. — Leucine aminopeptidase; its non specificity as a test for carcinoma of the pancreas. — *Am. J. Dig. Dis.*, 1960, 5, 899.
94. RICO-IRLES J., SCHON H. et HENNING N. — Incidence et signification clinique de la leucine aminopeptidase. — *Gastroenterol.*, 1963, 4, 97-104.
95. ROGERS W.P. — Micromethods for the study of leucine aminopeptidase. — *Microchem. J.*, 1964, 8 (2), 194-202.
96. ROGERS W.P. — Leucine aminopeptidase in the molting of nematode parasites. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1965, 14 (2), 311-321.
97. ROTH M. — A fluorimetric ultramicromethod for the determination of leucine aminopeptidase in biological fluids. — *Clin. Chim. Acta.*, 1964, 9 (5), 448-453.
98. RUTENBURG A.M., GOLDBARG J.A. et PINEDA E.P. — Leucine aminopeptidase activity; observations in patients with cancer of the pancreas and other diseases. — *New Engl. J. Med.*, 1958, 259, 469.
99. RUTENBURG A.M., PINEDA E.P., GOLDBARG J.A., LEVITAN R., GELLIS S.S. et SILVERBERG M. — La leucine aminopeptidase sérique. Activité chez le nourrisson normal, dans l'atrésie biliaire et dans d'autres affections. — *Am. J. Dis. Child.*, 1962, 103, 47-54.
100. RUTENBURG A.M., PINEDA E.P., FISCHBEIN J. et GOLDBARG J.A. — Serum peptidases in anicteric patients with cancer. — *Cancer*, 1964, 17 (6), 781-784.
101. SAMORAJSKI T., ROLSTEN C. et ORDY J.M. — Une méthode simplifiée de dosage de la leucine aminopeptidase sérique. — *Am. J. Clin. Pathol.*, 1962, 38, 645-650.
102. SANTHANAGOPALAN T. — Serum leucine aminopeptidase activity in vitiligo. A preliminary report. — *Indian, J. Dermatol. venereol.*, 1965, 30 (6), 237-239.
103. SANTHANAGOPALAN T. et MUKHERJI S.N. — Leucine aminopeptidase activity in maternal and neonatal blood. — *Indian J. Pathol. Bacteriol.*, 1965, 8 (1), 18-20.
104. SCHOBEL B., STEFENELLI N., WEWALKA F. et HOLZNER J.H. — The leucine aminopeptidase of duodenal mucous membrane and duodenal juice. — *Klin. Wochschr.*, 1964, 38, 645-650.
105. SCHOBEL B. et WEWALKA F. — L'hétérogénéité de la leucine aminopeptidase. Etudes sur des organes et du sérum dans des affections hépatiques, biliaires et pancréatiques. — *Klin. Wschr.*, 1962, 40 (20), 1048-1056.
106. SCIARRA J.J. et BURRESS D.A. — Leucine aminopeptidase sérique dans les grossesses gémellaires. — *Proceeding of Soc. Experim. Biol. Med.*, 1960, 104, 712-713.

107. SHAY H., SUN D.C.H. et SIPLET H. — La leucine aminopeptidase. Signification des élévations dans le sérum dans les maladies du système hépatobiliaire et pancréatique. — *Am. J. Digest. Dis.*, 1960, 5, 217-232.
108. SHON H., RASSLER B. et WEYERGRAF H.J. — La détermination de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum. — *Z. Klin. Chem. Dtsch.*, 1963, 1 (3), 73-78.
109. SMITH E.L. — Proteolytic enzymes. — *The Enzymes*, 1951, 1 (2), 810-814.
110. SMITH E.E., PINEDA E.P. et RUTENBURG A.M. — Localisation de l'activité leucine aminopeptidasique du sérum par appier électrophorétique. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1962, 110 (4), 1256-1257.
111. SZASZ G. — Determination of serum enzyme activities in serum of children with nephrotic syndrome. — *Klin. Wochschr.*, 1962, 40, 321.
112. SZASZ G. — L'activité physiologique de la leucine aminopeptidase dans le sérum et le L.C.R. — *Klin. Wochschr.*, 1962, 40 (24), 1256-1257.
113. THIEBLOT L., BASTIDE P., BOYER J. et Mme BLAISE. — Premières recherches sur les activités enzymatiques de la glande pinéale (aspirine-estérase, phosphatases acide et alcaline, 5-nucléotidase, leucine aminopeptidase, adénosine-triphosphatase, transaminases glutamique-oxaloacétique et glutamique-pyruvique, créatinine-phosphokinase, ornithine-carbamyl-transférase, aldolase, lactico-déshydrase, fumarase, phospho-héxose-isomérase). — *J. Physiol.*, 1963, 2, 133.
114. VOKURKOVA I. et TOVAREK J. — Leucine aminopeptidase in the diagnosis of internal diseases. — *Caposis Lekaru Ceskych*, 1964, 103 (6), 981-986.
115. WACHSTEIM M. — Enzymatic histochemistry of the liver. — *Gastroenterol.*, 1959, 37, 525.
116. WAJIMA T. et TAKAHASHI H. — Agar-gel electrophoretic method for the determination of L.A.P. iso-enzymes as applied to serum and organ homogenates. — *Igaku To Seibutsugaku*, 1964, 68 (2), 101-103.
117. WAJIMA T. et TAKAHASHI H. — Iso-enzymes of amylase-alkaline phosphatase, lactic dehydrogenase and leucine aminopeptidase in urine. — *Igaku To Seibutsugaku*, 1964, 69 (5), 241-243.
118. WEBER H. — Simple micromethod for the determination of leucine aminopeptidase in serum. — *Clin. Chem. Acta*, 1964, 10 (6), 521-529.
119. WINSTEN S. — Dosage de la leucine aminopeptidase. — *Am. J. Gastroenterol.*, 1961, 36 (3), 241-247.

120. WINTERSBERGER E. et UPPY H. — Zonen elektrophorese von aminopeptidasen in stärkegel. — *Monatsh. F. Chem.*, 1960, **91**, 406.
121. WYSOCKI J. — Serum leucine aminopeptidase activity in diseases of the liver, bile ducts and pancreas. — *Przegląd. Epidemiol.*, 1965, **19** (1), 119-121.
122. ZSOLNAY B., SOMOGYI J., SZARVAS Z. et PUSKAS E. — The role of the proteolytic enzymes in pregnancy. 1. The behavior of leucine aminopeptidase in the serum and placenta. — *Acta. Chir. Acad. Sci. Hung.*, 1964, **5** (3), 207-218.
123. L.A.P. A modification of the Goldbarg and Rutenburg procedure. — *The Research Laboratories of Sigma*, March 1960.
-

Table des matières

	PAGES
INTRODUCTION.	17

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

Définition.	21
Historique.	21
Répartition.	22
Spécificité.	22
Hétérogénéité.	23
Dosage.	23

CHAPITRE II

INTERET CLINIQUE

L.A.P. et cancer.	25
L.A.P. et maladies du foie et des voies biliaires.	26
L.A.P. et affections pathologiques diverses.	29
L.A.P. et grossesse.	29

CHAPITRE III

CONTRIBUTION EXPERIMENTALE

Appréciation de l'activité enzymatique.	33
Expression des résultats.	36
Cas pathologiques. Résultats obtenus.	45
Discussion.	46

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.	49
BIBLIOGRAPHIE.	53

